

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

54-54

AU 125 48002

JA 0015435
FEB 1980

<p>19264C/11 A96 B05 SEGK 20.07.78 SEIKAGAKU KK JS 5015-435 20.07.78-JA-087750 (02.02.80) A61k-31/72 Platelet aggregation inhibiting agent - contains sodium glucan sulphate having specified sulphur content, as active ingredient</p>	A(12-V) B(4-C2, 12-H2). 2 253
<p>Platelet aggregation inhibiting agent contains sodium glucan sulphate (pref. of 0.010-1.50 limiting viscosity number and 5-21.0% sulphur content, e.g. sodium amylopectin sulphate, sodium amylose sulphate, sodium glycogen sulphate, or sodium starch sulphate) having mainly α-1,4-connection, as the active ingredient.</p> <p><u>USE/ADVANTAGE</u> The agent has more than twice the platelet aggregation inhibitory activity of heparin.</p> <p><u>ACTIVITY</u> 2 Cpds. of the invention demonstrated excellent platelet aggregation inhibition (% 1st figure) in comparison with 4 known cpds. as follows (2nd and 3rd figures in parenthesis gave $[\eta]$ and S-content in order): Na amylopectin sulphate (37, 0.131, 18.9), Na amylose sulphate (58, 0.090, 19.0), Na heparin sulphate (22, 0.163, 11.3), Na chondroitin sulphate (0, 0.967, 6.3), Na dextran sulphate (0, 0.032, 18.0) and Na</p>	<p>cellulose sulphate (0, 0.103, 16.4).</p> <p><u>EXAMPLE</u> Amylopectin (10g, molecular weight = 1.8×10^5) is added to 45 ml. 96% conc. H_2SO_4 at $-25^\circ C$, kept at $-10^\circ C$ for 2 hr., treated with iced water, neutralized with Na_2CO_3 and filtered. The resultant filtrate is diluted with 2500 ml. MeOH and filtered to collect ppt. which is dissolved in 100 ml. water, dialyzed and diluted with 850 ml. MeOH. The resultant ppt. is dried to give 16.8g. Na amylopectin sulphate ($[\eta]$ = 0.052, S-content = 16.9%). (5ppW38).</p> <p>J55015435</p>

⑩ 日本国特許庁 (JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭55-15435

⑬ Int. Cl.³
A 51 K 31/725

識別記号
ACB

庁内整理番号
6617-4C

⑭ 公開 昭和55年(1980)2月2日

発明の数 1
審査請求 未請求

(全 5 頁)

⑮ 血小板凝集抑制剤

⑯ 特 願 昭53-87750

⑰ 出 願 昭53(1978)7月20日

⑱ 発 明 者 浅田敏雄
柏江市岩戸3-5-14-507

⑲ 発 明 者 向山秀樹
横浜市中区千歳町1-11-1003

⑳ 発 明 者 柴忠明
千葉県印旛郡四街道町鹿渡933-82

㉑ 発 明 者 五十嵐紀子
武蔵野市八幡町4-37

㉒ 発 明 者 柴田有康
東京都中野区中野5-3-9

㉓ 発 明 者 蒲原重喜
秋川市上代305-21

㉔ 出 願 人 生化学工業株式会社
東京都中央区日本橋本町二丁目九番地八

㉕ 代 理 人 弁理士 津国肇

明 細 書

1 発明の名称

血小板凝集抑制剤

2 特許請求の範囲

1 結合が主として α -1,4結合からなるグルカン硫酸ナトリウムを活性成分として含有することを特徴とする血小板凝集抑制剤。

2 グルカン硫酸ナトリウムがアミロペクテン硫酸ナトリウム、アミロース硫酸ナトリウム、グリコーゲン硫酸ナトリウム又はデンプン硫酸ナトリウムである特許請求の範囲第1項記載の血小板凝集抑制剤。

3 グルカン硫酸ナトリウムが極限粘度0.010~1.50、イオウ含量5~21.0重量%を示すものである特許請求の範囲第1項記載の血小板凝集抑制剤。

3 発明の詳細な説明

本発明は血小板の凝集抑制剤に関するものであり、さらに詳しくは主として α -1,4結合からなるグルカンの硫酸エステルナトリウム塩を活性成

分として含有することを特徴とする血小板凝集抑制剤に関する。

止血機構において重要な役割を果たしている血小板は、特に悪性腫瘍、火傷、動脈硬化などにおいて異常な粘着や凝集が起り、これが原因となつて血栓症を惹起する場合が多い。近年このような血小板凝集に由来する血栓症は漸増の傾向にあり、適切な血小板凝集抑制作用を有する抗血栓剤の開発が望まれている。

本発明者らは多糖硫酸エステルであるヘパリンが血小板凝集抑制作用を有する点に着目し、各種多糖硫酸エステルについて研究を重ねた結果、血小板凝集抑制作用を有する物質としてその結合が主として α -1,4結合からなるグルカンの硫酸エステルナトリウム塩が優れた血小板凝集抑制作用を有することを見出し、本発明に到達した。

すなわち、本発明の目的は血小板凝集抑制剤を提供することである。

本発明の血小板凝集抑制剤は、結合が主として α -1,4結合からなるグルカン硫酸ナトリウムを

① ② ③ ④ ⑤ ⑥ ⑦ ⑧ ⑨ ⑩ ⑪ ⑫ ⑬ ⑭ ⑮ ⑯ ⑰ ⑱ ⑲ ⑳ ㉑ ㉒ ㉓ ㉔ ㉕ ㉖ ㉗ ㉘ ㉙ ㉚ ㉛ ㉜ ㉝ ㉞ ㉟ ㊱ ㊲ ㊳ ㊴ ㊵ ㊶ ㊷ ㊸ ㊹ ㊺ ㊻ ㊼ ㊽ ㊾ ㊿ ① ② ③ ④ ⑤ ⑥ ⑦ ⑧ ⑨ ⑩ ⑪ ⑫ ⑬ ⑭ ⑮ ⑯ ⑰ ⑱ ⑲ ⑳ ㉑ ㉒ ㉓ ㉔ ㉕ ㉖ ㉗ ㉘ ㉙ ㉚ ㉛ ㉜ ㉝ ㉞ ㉟ ㊱ ㊲ ㊳ ㊴ ㊵ ㊶ ㊷ ㊸ ㊹ ㊺ ㊻ ㊼ ㊽ ㊾ ㊿

フォルム
 水硫酸コン
 (分子量1.
 時間保ち、
 生じた硫酸
 トリウムを
 ール1.20
 してアミロ
 た。このも
 重量多であ
 調製例3
 -20℃
 硫酸20ml
 量 2.8×1
 ち、次いで
 を分取し、
 いてpHを9
 加え、生じ

表 1 血小板聚集抑制率

	多価硫酸ナトリウム	物 性	血小板凝集抑制率(%)
本 発 明 内	アミロペクタン硫酸 ナトリウム	[η] : 0.131 S : 18.9	37
	アミロース硫酸 ナトリウム	[η] : 0.090 S : 19.0	58
本 発 明	ヘパリンナトリウム	[η] : 0.163 S : 11.3	22
	コンドロイチン硫酸 ナトリウム	[η] : 0.967 S : 6.3	0
外	アキャストラン硫酸 ナトリウム	[η] : 0.032 S : 18.0	0
	セルロース硫酸 ナトリウム	[η] : 0.103 S : 16.4	0

以上の結果から明らかな如く本発明のグルカン
硫酸ナトリウムであるアミロペクチン硫酸ナトリ

本発明の血小板凝集抑制剤はグルカン硫酸ナトリウム単独でもよいし、あるいはグルカン硫酸ナトリウムを不活性薄層（特に水）に溶解もしくは懸濁させたもの、または不活性担体、増量剤中に包含させたものであつてもよい。

次に本発明を調製例および実施例によつて詳細に説明するが、本発明はその要旨を越えない限りこれらによつて限定されるものではない。

アミロメタテン(分子量 1.8×10^5) 10gを
-25℃に冷却した96多量硫酸45mlに加え、
-10℃に3時間保つた後水を加え、硫酸ナト
リウムを用いて中和し生じた沈殿を濾き、メタノ
ール2,500mlを加え、生じた沈殿を採取し、水
100mlに溶かして透析後メタノール850mlを
加え、生じた沈殿を分取、乾燥してアミロメタ
テン硫酸ナトリウム16.8gを得た。このものは無

フォルム
 水硫酸コ
 (分子重:
 時間保ち、
 生じた沈
 トリウム
 ール1.20
 してグリ
 このもの
 多であつ
 調製例7
 -25-
 コーゲン
 ちに3時
 を用いて
 1.500
 中に溶解
 生じた沈
 トリウム
 8含量1

限粘度0.052、 δ 含量16.9重量多であつた。

調製例2

フォルムアミド500 μ にトリエチルアミン無水硫酸コンプレックス200 μ とアミロペクテン(分子量 1.5×10^5)15 μ を加え、50 $^{\circ}\text{C}$ に3時間保ち、次いでエタノール3,500 μ を加え、生じた沈殿を分取し、水85 μ に溶解し、炭酸ナトリウムを用いて pH を9に調整し、透析後エタノール1,200 μ を加え、生じた沈殿を分取、乾燥してアミロペクテン硫酸ナトリウム33.8 μ を得た。このものは極限粘度0.131、 δ 含量18.9重量多であつた。

調製例3

-20 $^{\circ}\text{C}$ に冷却したピリジン2,500 μ に無水硫酸20 μ を加え、これにアミロペクテン(分子量 2.8×10^5)50 μ を加え、70 $^{\circ}\text{C}$ に3時間保ち、次いでメタノール10 μ を加え、生じた沈殿を分取し、水1 μ に溶解し、炭酸ナトリウムを用いて pH を9に調整し、透析後メタノール10 μ を加え、生じた沈殿を分取、乾燥してアミロペクテ

フォルムアミド500 μ にトリエチルアミン無水硫酸コンプレックス100 μ とグリコーゲン(分子量 3.3×10^5)15 μ を加え、50 $^{\circ}\text{C}$ に3時間保ち、次いでエタノール3,500 μ を加え、生じた沈殿を分取し、水85 μ に溶解し、炭酸ナトリウムを用いて pH を9に調整し、透析後エタノール1,200 μ を加え、生じた沈殿を分取、乾燥してグリコーゲン硫酸ナトリウム24.0 μ を得た。このものは極限粘度0.151、 δ 含量10.8重量多であつた。

調製例7

-25 $^{\circ}\text{C}$ に冷却した96 μ 濃硫酸50 μ にグリコーゲン(分子量 3×10^5)20 μ を加え、-10 $^{\circ}\text{C}$ に3時間保つた後水を加え、炭酸ナトリウムを用いて中和し、生じた沈殿を除き、メタノール1,500 μ を加え、生じた沈殿を分取し、水150 μ に溶解し、透析後メタノール1,000 μ を加え、生じた沈殿を分取、乾燥してグリコーゲン硫酸ナトリウム31 μ を得た。このものは極限粘度0.036、 δ 含量18.2重量多であつた。

15455-15435(3)

ン硫酸ナトリウム75.8 μ を得た。このものは極限粘度0.835、 δ 含量19.0重量多であつた。

調製例4

-20 $^{\circ}\text{C}$ に冷却したクロルスルホン酸100 μ にアミロペクテン(分子量 2.0×10^5)30 μ を加え、10 $^{\circ}\text{C}$ に2時間保つた後、冷却したエタノール1 μ 中に攪拌しながら注ぎ、生じた沈殿を分取し、以下調製例2と同様に水に溶解し、中和、透析、エタノール沈殿を行なつてアミロペクテン硫酸ナトリウム58.5 μ を得た。このものは極限粘度0.015、 δ 含量19.1重量多であつた。

調製例5

フォルムアミド100 μ に、10 $^{\circ}\text{C}$ に保ちながらクロルスルホン酸10 μ およびアミロペクテン(分子量 2.7×10^5)8 μ を加え、10 $^{\circ}\text{C}$ に5時間保つた後エタノール500 μ を加え、生じた沈殿を分取し、以下調製例4と同様に処理してアミロペクテン硫酸ナトリウム6.8 μ を得た。このものは極限粘度1.32、 δ 含量6.5重量多であつた。

調製例6

調製例8

-20 $^{\circ}\text{C}$ に冷却したピリジン2,000 μ に無水硫酸30 μ を加え、これにグリコーゲン(分子量 1×10^5)40 μ を加え、80 $^{\circ}\text{C}$ に4時間保ち、次いでメタノール8,000 μ を加え、生じた沈殿を分取し、水700 μ に溶解し、炭酸ナトリウムを用いて pH を9に調整し、透析後メタノール4,000 μ を加え、生じた沈殿を分取、乾燥してグリコーゲン硫酸ナトリウム60 μ を得た。このものは極限粘度0.052、 δ 含量15.8重量多であつた。

調製例9

-20 $^{\circ}\text{C}$ に冷却したクロルスルホン酸50 μ にグリコーゲン(分子量 2×10^5)15 μ を加え、10 $^{\circ}\text{C}$ に2時間保つた後、冷却したエタノール850 μ 中に攪拌しながら注ぎ、生じた沈殿を分取し、以下調製例1と同様に水に溶解し、中和、透析、エタノール沈殿を行なつてグリコーゲン硫酸ナトリウム21 μ を得た。このものは極限粘度0.012、 δ 含量20.5重量多であつた。

調製例10

フォルムアミド200mlに、10℃に保ちながらタロルスルホン酸25ml、次いでグリコーゲン(分子量 2×10^5)10gを加え、10℃に8時間保つた後、エタノール900mlを加え、生じた沈殿を分取し、以下調製例4と同様に処理してグリコーゲン硫酸ナトリウム18.9gを得た。このものは極限粘度0.125、S含量19.4重量%であつた。

調製例11

アミロース(分子量 6×10^5)25gを、-25℃に冷却した99多量硫酸100mlに加え、-15℃に1時間保つた後水を加え、炭酸ナトリウムを用いて中和し、メタノール1,500mlを加え、生じた沈殿を分取し、以下調製例1に準じて処理してアミロース硫酸ナトリウム48gを得た。このものは極限粘度0.120、S含量18.5重量%であつた。

調製例12

フォルムアミド10mlにトリエチルアミン・無水硫酸コンプレックス3gおよびアミロース(分

子量 6×10^5)1gを加え、70℃に5時間保つた後、エタノール50mlを加え、生じた沈殿を分取し、以下調製例2に準じて処理してアミロース硫酸ナトリウム2.1gを得た。このものは極限粘度0.090、S含量18.5重量%であつた。

調製例13

ピリジン600mlに無水硫酸70mlを加え、これにゲンブン(分子量 7×10^5)33gを加え、90℃に4.5時間保ち、次いでエタノール1,800mlを加え、生じた沈殿を分取し、以下調製例3に準じて処理して炭粉硫酸ナトリウム64.9gを得た。このものは極限粘度0.121、S含量17.5重量%であつた。

実施例

クエン酸を添加した新鮮な血液を750回転/分、10分間遠心分離して上清に血小板を多く含む血漿を得た。血漿0.25mlに調製例1乃至13で得たアミロペクテン、またはグリコーゲン、またはアミロース、またはゲンブンの硫酸エステルナトリウムを1ml当たり0.0025g含む溶液25

ニ
て高い活
ルカン酸
る抗血栓

特許

代理人

問

mlを加え、次いでアデノシンダイホスフェイト(米田、シダ社製)を1ml当たり0.00001g含む溶液25mlを加え、混和後直ちにシエンコ・アグリゲーション・メーター・モデルDP247E(米田、シエンコ社製)を用いて凝集能を測定し、血小板凝集抑制率を求めた。その結果は表2の通りで何れのアルカン硫酸エステルナトリウムも血小板凝集を抑制した。

比較例としてヘパリンナトリウムについて同様に操作して血小板凝集抑制率を求めた。

表2 血小板凝集抑制率

		血小板凝集抑制率%
調製例1	アミロペクテン硫酸ナトリウム	35
" 2	"	37
" 3	"	41
" 4	"	35
" 5	"	43
" 6	グリコーゲン硫酸ナトリウム	70
" 7	"	62
" 8	"	65
" 9	"	62
" 10	"	69
" 11	アミロース硫酸ナトリウム	58
" 12	"	63
" 13	ゲンブン硫酸ナトリウム	49
比較例	ヘパリンナトリウム	22

本発明のその結合が主としてロー1.4結合からなるアルカンの硫酸エステルは血小板の凝集を抑制する作用を有する多糖硫酸エステルとして概め

0に5時間保つ
とじた皮膜を分
してアミロース
つものは極限粘
であつた。

0を加え、こ
33.9を加え、
タノール1,800
以下調製例3に
△64.9を得
、B含量17.5

を750回転/
血小板を多く含
製例1乃至13
リコーゲン、ま
の硫酸エステル
を含む溶液25

て高い活性を有する。このことから、本発明のグ
ルカン硫酸エステルは血小板凝集抑制作用を有す
る抗血栓剤の活性成分としての用途が期待される。

特許出願人 生化学工業株式会社

代理人 弁理士 吉 田 茂

同 上 岸 国 籍

血小板凝集抑制率(%)

3.5

3.7

4.1

3.5

4.3

7.0

6.2

6.5

6.2

6.9

5.8

6.3

4.9

2.2

-1.4 結合から
血小板の凝集を抑
テールとして極め